

## ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD PARA PROTEÍNAS DE ENDOSPERMO EN LOS CITOTIPOS 2N=10 Y 2N=30 DE BRACHYPODIUM

I. Sevilla-Madariaga, E. Benavente, P. Giraldo, J.F. Vázquez,  
J.M. Carrillo y M. Rodríguez-Quijano

Departamento de Biotecnología, ETSIA, Universidad Politécnica, 28040 Madrid

**Palabras clave:** *Brachypodium distachyon*, proteínas, electroforesis.

### Resumen

Se han analizado mediante electroforesis las proteínas del endospermo de 38 poblaciones españolas de *brachypodium*, correspondientes a los citotipos de 10 y 30 cromosomas. En total, se han identificado 40 bandas de proteínas diferentes, ninguna de las cuales ha resultado ser específica de uno de los dos citotipos. Se ha encontrado una alta variabilidad intra- e interpoblacional, siendo las poblaciones de 30 cromosomas las que muestran el mayor grado de diversidad genética.

### INTRODUCCIÓN

La especie *Brachypodium distachyon* está recibiendo un creciente interés por parte de la comunidad científica debido a que, junto a una serie de características que la hacen muy adecuada como planta modelo (ciclo de vida corto, reproducción autógama, y genoma de pequeño tamaño, entre otras), se encuentra evolutivamente mucho más próxima a cereales de la importancia económica del trigo o la cebada que otras especies modelo como el arroz o *Arabidopsis thaliana*. Además, accesiones recolectadas en el amplio rango de distribución de esta especie muestran una gran variación fenotípica para caracteres muy estrechamente relacionados con la calidad agronómica y la domesticación de los cereales cultivados (Opanowicz et al., 2008).

Las colecciones de semillas de *brachypodium* que mantienen bancos de germoplasma de prestigio contienen materiales diversos en cuanto a su número cromosómico, con especímenes de 10, 20 y 30 cromosomas (Draper et al., 2001). Experimentos de hibridación *in situ* han demostrado que las accesiones del citotipo 2n=30 corresponden a una especie alotetraploide, de origen híbrido entre *B. distachyon* (2n=10) y otra especie no caracterizada con valor 2n=20 (Hasterok et al., 2004). Todo ello evidencia que se trata de, al menos, tres especies distintas, morfológicamente tan similares que se recolectan bajo la misma denominación taxonómica. Nuestro estudio ha examinado la variabilidad para proteínas de endospermo que presentan poblaciones españolas de *brachypodium* de los citotipos de 10 y 30 cromosomas. La utilización de las proteínas de reserva para este análisis de diversidad genética se basa en su elevado polimorfismo, herencia codominante y facilidad de estudio comparativo entre diferentes individuos, poblaciones y especies, dada la homología y grado de conservación de los genes ortólogos que las codifican.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El material vegetal consistió en 38 poblaciones naturales de *Brachypodium distachyon* recolectadas en verano de 2008 por miembros del grupo de Mejora Genética de Plantas de la UPM

en localizaciones de Extremadura, Alto Aragón y la zona centro de la Península. La determinación del valor  $2n$  se realizó mediante recuento cromosómico directo en células meristemáticas de raíz de 2-3 individuos de cada población.

La extracción de las proteínas del endospermo se realizó a partir de 12 medios granos por individuo con el tampón 1M Tris HCl pH 6,8 que contenía 4% (p/v) dodecil sulfato sódico (SDS) y 5% (v/v) 2-mercaptoetanol. Los extractos de proteínas se fraccionaron por electroforesis en geles SDS-PAGE al 12%. Se analizaron 4 individuos de cada población. A partir del análisis de las bandas de proteínas, se elaboró una matriz binaria de datos, para calcular matrices de similitud usando los índices de JACCARD, mediante el programa NTSYS y el método de agrupamiento UPGMA.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el conjunto de las 38 poblaciones analizadas (19 de cada uno de los citotipos de 10 y 30 cromosomas), se han identificado 40 bandas de proteínas diferentes, con pesos moleculares entre 97,4 y 14,2 kDa. Dada la condición alotetraploide del citotipo de 30 cromosomas, era de esperar que en este grupo se detectaran proteínas adicionales a las encontradas en el grupo con citotipo diploide. Sin embargo, ninguna de las bandas identificables por el método de electroforesis empleado resultó ser específica del citotipo  $2n=30$  de *brachypodium*. La presencia/ausencia de esas 40 bandas de proteína sirvió para establecer un total de 89 patrones distintos en los individuos analizados, 40 de ellos en las poblaciones  $2n=10$  y 49 en las poblaciones  $2n=30$ . La observación del número de perfiles electroforéticos diferentes encontrados en los 4 individuos examinados en cada población evidenció también una mayor diversidad para proteínas de reserva en el citotipo  $2n=30$ , grupo en el que únicamente en 3 de las poblaciones todos los individuos presentaban idéntico patrón de bandas. El dendograma obtenido a partir de los índices de similitud de los 89 patrones caracterizados en las poblaciones examinadas, mostraba su distribución en cuatro grupos principales: A, B, C y D. Todos los correspondientes a individuos del citotipo  $2n=10$  se encuadraban en el grupo A, mientras que los de las poblaciones  $2n=30$  se encontraban distribuidos en los cuatro grupos principales. Este resultado constituye una evidencia adicional de la mayor diversidad genética que parece caracterizar a las accesiones alotetraploides de *brachypodium*.

## AGRADECIMIENTOS

A los botánicos Francisco Vázquez, Higinio Pascual y José Vicente Ferrández por su experta colaboración para la recolección de las poblaciones de *brachypodium*.

## REFERENCIAS

- Draper, J., Mur, L.A., Jenkins, G., Ghosh-Biswas, G.C., Bablak, P., Hasterok, R. and Routledge, A.P.M. 2001. *Brachypodium distachyon*. A new model system for functional genomics in grasses. *Plant Physiol.* 127: 1539-1555.
- Hasterok, R., Draper, J. and Jenkins, G. 2004. Laying the cytotaxonomic foundations of a new model grass, *Brachypodium distachyon* (L.) Beauv. *Chromosome Res.* 12:397-403.
- Opanowicz, M., Vain, P., Draper, J., Parker, D. and Doonan, J.H. 2008. *Brachypodium distachyon*: making hay with a wild grass. *Tr. Plant Sci.* 13: 172-177.